DRHRS/ Pôle RMDC

Epreuve Technique d'admission

Technicien de laboratoire - gestion d'élevage aquacole et maintenance de laboratoire

Durée : 3 heures Coefficient : 2

Corps : Technicien de recherche
BAP A: Sciences du vivant

Année 2010

La rédaction des épreuves est assujettie à un profil de poste, elle est donc indicative.

Consignes à lire attentivement

- L'épreuve étant anonyme, aucun signe distinctif ne devra être porté sur les copies d'examen (signature, inscription de votre nom et votre prénom ailleurs que dans le cadre réservé à cet effet, etc.).
- Veuillez vérifier que votre questionnaire est complet.
- Le dictionnaire anglais/français n'est pas autorisé.
- La clarté de vos propos et des écrits synthétiques sont essentiels
- L'usage de la calculatrice uniquement si elle est mentionnée dans la convocation
- Pour toutes les questions, la clarté et la concision des réponses interviendront dans la note finale.

Contact

Irstea
Direction des Ressources Humaines et des Relations Sociales
Pôle recrutement, mobilité et développement des compétences
1 rue Pierre-Gilles de Gennes CS 10030
F-92761 ANTONY Cedex

Sur www.irstea.f rubrique "Nous rejoindre" puis "concours externe"
Ou auprès du pôle RMDC: concours@irstea.fr / 01 40 96 60 37 ou 65 29

Institut national
de recherche en sciences
et technologies
pour l'environnement
et l'agriculture

CONCOURS EXTERNE

TR 2010-1 MALY
BAP A - sciences du vivant

Affectation au groupement de LYON
Epreuve technique d'admission

Date : jeudi 3 juin 2010

de 10h00 à 13h00 (Durée 3H)

Consignes à lire impérativement:

- Eteignez votre téléphone portable dés l'entrée dans la salle d'examen. L'usage de cet appareil est interdit pendant l'épreuve.
- L'épreuve étant anonyme, **n'inscrivez ni nom, ni aucun signe distinctif sur vos copies** sous peine de rejet de votre candidature.
- Aucun candidat n'est autorisé à quitter la salle d'épreuve avant la moitié de la durée de l'épreuve soit 1H30.
- Les feuilles de brouillon ne seront pas notées.
- Les exercices sont indépendants les uns des autres et peuvent donc être traités dans n'importe quel ordre.
- L'usage de la calculatrice est autorisé.
- Le respect des consignes, la présentation, l'expression écrite et l'orthographe seront pris en compte dans la notation (2 points)
- L'épreuve est notée sur un total de 60 points, le barème est indiqué en face de chaque exercice.

1 – Indiquez sur votre copie la ou les bonne(s) réponse(s)
9 points (1 point par question)

1A - Excel ® est :
1. un logiciel de traitement de texte
2. un anti-virus
3. un tableur
4. un antibiotique

1B - Qui délivre l'agrément des bâtiments d'une installation pour l'expérimentation animale ?
1. Le Ministère de la Recherche
2. La Direction des Services Vétérinaires
3. La Commission Nationale d'Agrément de l'INRA
4. Le Ministère de l'Agriculture

1C - L'intensité lumineuse se mesure avec :
1. Un luxmètre
2. Un spectrophotomètre
3. Un luminomètre
4. Un éclairomètre

1D - Les antibiotiques sont utilisés pour lutter contre :
1. Les champignons
2. Les bactéries
3. Les insectes
4. Les virus

1E - Quel est l'objectif premier de l'assurance qualité ?
1. Disposer des moyens adéquats pour des prestations
2. Savoir qui fait quoi – comment, avec quoi
   Formaliser le savoir faire de l'entreprise pour donner confiance aux clients
3. Améliorer l'image de marque de l'entreprise
4. Avoir des produits conformes

1F - Les poissons sont des :
1. vertébrés
2. invertébrés
3. crustacés
4. mollusques

1G - Les branchies sont des organes :
1. respiratoires
2. excrétoires
3. respiratoires et excrétoires

1H - L'augmentation de la température de l'eau a-t-elle une influence sur la concentration en oxygène ?
1. Oui elle l'augmente
2. Oui elle la diminue
3. Non elle n'a pas d'effet

1I L'aliment est distribué aux poissons en fonction de :
1. Leur poids
2. Leur âge
3. La température de l'eau

2 - Questions courtes
26 points (2 points pour chacune des 13 questions de 2A à 2M)

Donnez des réponses courtes (maximum 5 lignes par question).

2A – Quel est le statut administratif du Cemagref ?

2B - Quelles sont les techniques mises en œuvre pour alimenter en eau un aquarium d'élevage ?

2C - Qu'est ce que l'écotoxicologie ?

2D - Citez au moins trois modes de reproduction des invertébrés aquatiques

2E - Définition de la photopériode .

2F - Quels sont les différents niveaux de formation à l'expérimentation animale ?

2G – Quelles mesures pouvez-vous mettre en œuvre pour vous assurer de la bonne santé d'un élevage de poissons ou d'invertébrés ?

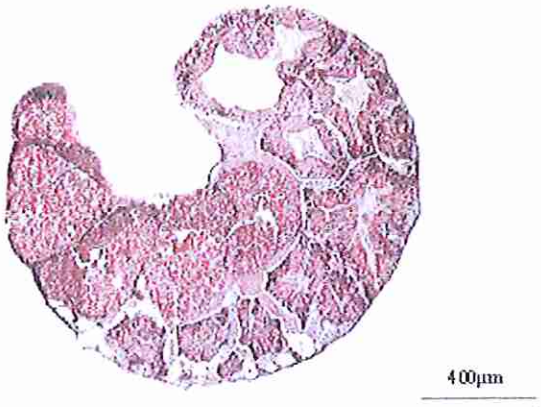
2H - Quelles précautions prenez vous pour la manipulation de produits toxiques (non CMR) ?

2I - Quels sont les paramètres à contrôler régulièrement pour vérifier le bon fonctionnement d'un aquarium ?

2J - Quelles sont les précautions élémentaires pour assurer la qualité sanitaire d 'un élevage ?

2K

2Ka - Que représente selon vous cette photo ?

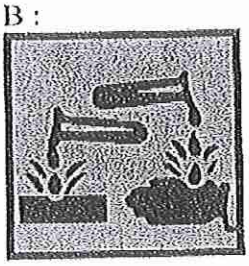


2Kb - Quelle est la technique mise en œuvre pour l'obtenir ?

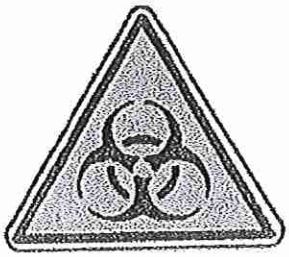
2L - Que signifient les panneaux ci-dessous

A :

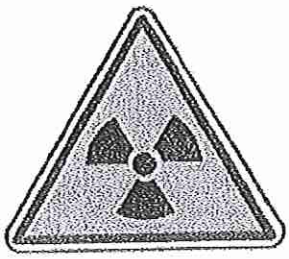
B :



C :



D :



2M - Vous voulez préparer 100 ml d'une solution 0.0003 M de cadmium avec du Chlorure de cadmium ($Cd\ Cl_2$) avec Cd = 112.4 , Cl = 35.5. Vous avez à votre disposition une balance au 1/100 de gramme

1Ma - Comment procédez vous pour préparer cette solution et pourquoi?

1Mb - Quelle masse de chlorure de cadmium devez vous peser pour utiliser le moins de produit possible?

3 - Les extraits de la norme en annexe 1 présentent le déroulé d'un essai. Vous répondrez aux questions relatives à cette norme
12 points (3 points par question)

3A - De combien de temps devez vous disposer pour réaliser un essai complet ?

3B - Pourquoi un essai peut-il ne pas être validé ?

3C - Quels sont les paramètres physico-chimiques à surveiller au cours de l'essai ?

3D - Que signifie la CL_{50} 96h ?

4 - Compréhension anglais
6 points (2 points par question)

Le texte en annexe 2 présente un protocole de biotest en laboratoire.

4A - A quels types d'échantillons cette norme est elle destinée?

4B - Quel doit être l'âge des organismes en début et en fin d'essai ?

4C - Quelles sont les conditions environnementales de l'essai

5 - Mode d'emploi d'un appareil
5 points (1 point par question)

En annexe 3 figure le mode d'emploi d'un appareil

5A - Quelles sont les mesures possibles avec cet appareil ?

5B - Comment procédez vous pour étalonner l'appareil pour faire une mesure dans un milieu plutôt basique ?

5C - A quelle fréquence faites vous l'étalonnage de votre appareil ?

5D - Quelles sont les précautions particulières pour une conservation des électrodes ?

5E - Votre appareil ne s'allume pas que vérifiez-vous en premier ?

Annexe 1

Qualité de l'eau - Détermination de la toxicité aiguë létale de substances vis-à-vis d'un poisson d'eau douce [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Téléostei, Cyprinidae)] -

Partie 3:
Méthode avec renouvellement continu

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 7346 prescrit une méthode avec renouvellement continu pour la détermination de la toxicité aiguë létale de substances simples, stables, non volatiles, solubles dans l'eau dans les conditions prescrites, vis-à-vis d'un poisson d'eau douce [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Téléostei, Cyprinidae) - nom commun, poisson-zèbre], dans une eau de qualité donnée.

La méthode est applicable pour chaque substance à expérimenter, pour donner une idée globale de la toxicité aiguë létale vis-à-vis du *Brachydanio rerio*, dans les conditions de l'essai.

Les résultats sont en eux-mêmes insuffisants pour définir des normes de qualité de l'eau en vue de la protection de l'environnement.

La méthode est également applicable à certaines autres espèces de poissons d'eau douce comme organismes pour essai[1].

La méthode peut être adaptée pour d'autres poissons d'eaux douce, marine ou saumâtre avec des modifications appropriées des conditions d'essai, concernant notamment la quantité et la qualité de l'eau de dilution et la température.

2 Principe

Détermination, dans des conditions définies, des concentrations auxquelles une substance est létale pour 50 % d'une population d'essai de *Brachydanio rerio*, après des périodes d'exposition à cette substance de 24 h, 48 h, 72 h et 96 h dans l'eau ambiante. Ces concentrations moyennes létales sont désignées par CL50 - 24 h, CL50 - 48 h, CL50 - 72 h et CL50 - 96 h.

---

1) Les espèces suivantes de poissons d'eau douce peuvent être utilisées, en sus de *Brachydanio rerio*, sans modification de la présente partie de l'ISO 7346:

- *Lepomis macrochirus* (Téléostei, Centrarchidae)
- *Oryzias latipes* (Téléostei, Poeciliidae)
- *Pimephales promelas* (Téléostei, Cyprinidae)
- *Poecilia reticulata* (Téléostei, Poeciliidae)

L'essai est réalisé en deux étapes:

a) un essai préliminaire qui donne une indication approximative des concentrations moyennes aiguës létales et qui sert à déterminer la gamme des concentrations pour l'essai définitif;

b) un essai définitif dont seuls les résultats sont reportés.

S'il est manifeste que les concentrations restent relativement constantes (par exemple s'écartant au plus de 20 % de la valeur nominale) pendant l'essai, les concentrations nominales ou mesurées sont utilisées pour l'estimation de la CL50. Si des analyses montrent que les concentrations réelles restent relativement constantes, mais inférieures à 80 % ou supérieures à 120 % des valeurs nominales, les valeurs analytiques sont utilisées pour l'estimation de la CL50. S'il n'est pas manifeste que les concentrations d'essai restent à un niveau acceptable pendant la durée de l'essai ou s'il est connu (ou suspecté) que les concentrations de la substance d'essai ont décru significativement à un certain stade de l'essai, alors, sans tenir compte des données analytiques disponibles ou non, la CL50 ne peut être déterminée en utilisant la présente méthode d'essai. Dans ce cas, l'essai n'est pas nécessairement invalidé, mais il peut seulement être établi que la CL50 de la substance est $\leqslant x$ mg/l, la valeur, x, étant estimée à partir des concentrations nominales utilisées.

3 Organismes pour essai et réactifs

Les réactifs chimiques doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée pour la préparation des solutions de réactif doit être distillée dans un appareil en verre ou déionisée d'une pureté au moins équivalente.

3.1 Organismes pour essai

L'espèce utilisée pour l'essai doit être le *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Téléostei, Cyprinidae), appelée communément «poisson-zèbre». Chaque poisson pour essai doit avoir une longueur totale de 30 mm ± 5 mm ce qui, en principe, correspond à une masse de 0,3 g ± 0,1 g. Ils doivent être sélectionnés à partir d'une population mère unique. Il convient que cette population mère ait été acclimatée et, dans tous les cas, maintenue au moins 7 jours avant l'essai dans l'eau de dilution, aérée de manière continue par barbotage d'air (voir 3.2), dans des conditions de qualité de l'eau et d'éclairement semblables à celles utilisées pour l'essai. Ils doivent être nourris normalement jusqu'aux 24 h précédant immédiatement l'essai.

Les poissons pour essai doivent être exempts de maladies ou de malformations visibles. Ils ne doivent subir aucun traitement pendant l'essai ou pendant les 2 semaines précédant l'essai. À l'issue de l'essai, il convient d'éliminer de façon convenable les poissons restant en vie.

Les conditions d'environnement pour la maintenance et l'élevage du poisson-zèbre sont données dans l'annexe A.

3.2 Eau de dilution normalisée

L'eau de dilution normalisée fraîchement préparée doit avoir un pH de 7,8 ± 0,2, une dureté calcique d'environ 250 mg/l, exprimée en carbonate de calcium, et doit contenir les concentrations suivantes de sels dissous dans l'eau distillée ou déionisée:

294,0 mg/l $CaCl_2,2H_2O$

123,3 mg/l $MgSO_4,7H_2O$

63,0 mg/l $NaHCO_3$

5,5 mg/l KCl

Aérer l'eau de dilution jusqu'à ce que la concentration en oxygène dissous atteigne au moins 90 % de la valeur de saturation dans l'air et jusqu'à stabilisation du pH à 7,8 ± 0,2. Si nécessaire, ajuster le pH de la solution en ajoutant une solution d'hydroxyde de sodium ou de l'acide chlorhydrique. L'eau de dilution ainsi préparée ne doit recevoir aucune aération supplémentaire avant emploi dans les essais.

3.3 Solutions mères des substances à expérimenter

Il convient de préparer une solution mère de la substance à expérimenter par dissolution d'une quantité connue de la substance dans un volume défini d'eau de dilution, d'eau déionisée ou d'eau distillée dans un appareil en verre. Il convient de préparer la solution mère à une fréquence appropriée à la stabilité de la substance à expérimenter. Afin de permettre la préparation des solutions mères et d'aider à leur transfert dans les récipients d'essais, les substances de faible solubilité aqueuse peuvent être solubilisées ou dispersées par des moyens adéquats, tels que des dispositifs à ultrasons et des solvants organiques de faible toxicité vis-à-vis du poisson. Lorsqu'un solvant organique est employé, sa concentration dans la solution d'essai ne doit pas excéder 0,1 ml/l ou un volume contenant 0,1 g/l (prendre en compte la valeur la plus élevée). Lorsqu'un solvant est utilisé, deux jeux

d'essais témoins, l'un contenant le solvant à la concentration maximale utilisée dans les récipients d'essais et l'autre sans solvant ni substance à expérimenter, doivent être inclus.

3.4 Solutions d'essai

Les solutions d'essai sont préparées par ajout des quantités appropriées de la solution mère de la substance à expérimenter à l'eau de dilution pour obtenir les concentrations nécessaires. Il est recommandé, lorsqu'une solution mère est préparée dans de l'eau déionisée ou de l'eau distillée, de ne pas ajouter plus de 100 ml de la solution mère pour 10 litres d'eau de dilution.

4 Appareillage

Tout matériau qui est susceptible d'entrer en contact avec tout liquide dans lequel les poissons sont placés ou avec lequel ils sont mis en contact doit être inerte et ne doit pas adsorber significativement la substance à expérimenter.

Matériel courant de laboratoire et ce qui suit.

4.1 **Récipients d'essais**, qui peuvent être de différentes formes, adaptés aux propriétés de la substance à expérimenter et tels que les critères de validité soient satisfaits [spécialement 7.1 b)]. Pour les substances volatiles, un système fermé peut être nécessaire. Lorsque des produits chimiques non volatils sont expérimentés, les récipients peuvent être ouverts à leur extrémité supérieure. Il convient que la capacité des récipients d'essais soit suffisante afin de ne pas dépasser, à aucun moment de l'essai, un rapport massique de 1,5 g de poisson par litre d'eau.

Avant emploi, les récipients d'essais doivent être soigneusement nettoyés, par exemple à l'aide d'un détergent non ionique (suivi par des lavages à l'aide d'acide et de solvant pour les substances susceptibles de s'adsorber dans le récipient d'essais).

4.2 **Dispositif de contrôle de la température**, pour réguler la température des solutions d'essai et de l'eau dans les récipients de stockage, à 23 °C ± 1 °C à l'aide d'une méthode appropriée.

4.3 **Dispositif de renouvellement des solutions**, appareillage doseur et mélangeur capable de maintenir les concentrations nécessaires de la substance à expérimenter dans les récipients d'essais à ± 20 % et installé de façon à suffisamment renouveler les solutions d'essai des récipients pour prévenir une chute de la concentration en oxygène dissous au-dessous de 60 % de la valeur de saturation dans l'air.

4.4 Filet, en nylon ou en un autre matériau chimiquement inerte, pour les récipients de contrôle et un autre pour tous les récipients d'essais (4.1).

5 Environnement de l'essai

La préparation et la conservation des solutions, la conservation des poissons et l'ensemble des manipulations et des essais doivent être réalisés dans des locaux dont l'atmosphère est exempte de contaminants de l'air à des concentrations nocives.

Éviter soigneusement toute perturbation indésirable susceptible de modifier le comportement des poissons. Réaliser les essais sous un éclairement normal de laboratoire d'une photopériode quotidienne de 12 h à 16 h.

6 Mode opératoire

6.1 État des poissons

En cas de changement de la population mère, effectuer un essai de toxicité selon la méthode définie dans la présente partie de l'ISO 7346 en utilisant un produit chimique de référence approprié [par exemple le dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$)]. Les résultats de tels essais doivent être en accord raisonnable avec les résultats obtenus précédemment par le même laboratoire.

Les poissons soumis à l'essai ne doivent pas avoir été utilisés dans des essais antérieurs.

Maintenir la température de l'eau dans les récipients de stockage à 23 °C ± 1 °C (4.2).

6.2 Essai de limite

En utilisant les modes opératoires décrits dans la présente partie de l'ISO 7346, un essai de limite peut être réalisé à la limite de solubilité aqueuse dans les conditions de l'essai ou à 100 mg/l (prendre en compte la valeur la plus faible), afin de démontrer que la CL50 - 96 h est plus élevée que cette concentration. Si aucun poisson ne meurt lors de l'essai de limite, aucun essai supplémentaire n'est requis.

Réaliser l'essai de limite à partir de 10 poissons, avec un nombre identique dans le(s) témoin(s).

NOTE 1 La théorie binomiale impose que lorsque 10 poissons sont utilisés, avec une mortalité nulle, il est sûr à 99,9 % que la CL50 - 96 h est plus élevée que la concentration de l'essai de limite. En cas de mortalité, il peut être nécessaire d'envisager une étude plus approfondie (voir 6.3

et 6.4). Si des effets sublétaux sont observés, il convient de les consigner.

6.3 Essai préliminaire

6.3.1 Lorsque cela est possible, utiliser la méthode avec renouvellement continu pour l'essai préliminaire, en adoptant la même gamme de concentrations, le même nombre de poissons par concentration et la même période d'observation que ceux décrits en 6.3.2 pour un essai préliminaire statique.

6.3.2 Placer au moins 2,5 litres, de préférence 5 litres, d'eau de dilution normalisée (3.2) dans six récipients d'essais (4.1) et les aérer si nécessaire pour restituer la concentration en oxygène dissous à au moins 90 % de sa valeur de saturation dans l'air.

Préparer les solutions d'essai par addition des quantités appropriées de la solution mère de la substance à expérimenter (3.3) à cinq des récipients afin d'obtenir une gamme adéquate de concentrations en progression géométrique, par exemple 1 000 mg/l, 100 mg/l, 10 mg/l, 1 mg/l et 0,1 mg/l. Ne rien ajouter au sixième récipient qui tient lieu de témoin. Les solutions doivent être amenées et maintenues à 23 °C ± 1 °C (4.2) et ne doivent pas être vigoureusement aérées durant l'essai.

Placer trois poissons dans chaque récipient.

Au moins deux fois par jour, noter le nombre de poissons morts et la concentration en oxygène dissous dans chaque récipient. Retirer les poissons morts.

Si les données sont insuffisantes pour établir la gamme de concentrations nécessaires à la réalisation de l'essai définitif, répéter l'essai préliminaire avec une autre gamme de concentrations.

6.4 Essai définitif

Choisir au moins cinq concentrations formant approximativement une série géométrique, par exemple 8 mg/l, 4 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l et 0,5 mg/l et incluant la plus basse concentration tuant tous les poissons dans l'essai préliminaire et la plus haute concentration non létale en 96 h. La série de concentrations choisie doit fournir la possibilité d'obtenir des mortalités entre 0 % et 100 % pour au moins deux concentrations consécutives de la série géométrique utilisée, ce qui est nécessaire pour une estimation de la CL50 à l'aide de la méthode des probit.

Dans certains cas, une gamme de concentrations plus étroite peut être nécessaire pour fournir les données requises et, dans d'autres cas, une gamme plus large peut être nécessaire.

Assembler au moins six récipients d'essais (4.1) et leur matériel annexe et y ajouter, excepté à un (ou deux), des volumes appropriés de l'une des séries de solutions d'essai respectivement, pour obtenir la gamme particulière des concentrations de la substance à expérimenter qui a été sélectionnée pour l'essai. Remplir l'un des récipients qui restent (voir note 2) avec de l'eau de dilution normalisée seule, pour tenir lieu de témoin.

Si un solvant organique a été utilisé pour dissoudre ou disperser une substance, préparer un second témoin avec l'eau de dilution normalisée contenant suffisamment de solvant organique pour obtenir la concentration maximale à laquelle le solvant est présent dans les récipients d'essais. Après que la solution d'essai (3.4) a été amenée à 23 °C ± 1 °C (4.2), placer au moins 7 poissons dans chacun des récipients, comme suit.

NOTE 2 Si des récipients de 1 litre sont utilisés, il convient d'utiliser deux récipients témoins avec l'eau de dilution seule et, si approprié, deux avec le solvant.

De façon aléatoire, choisir les poissons au sein de la solution mère et les placer dans les récipients d'essais, sans délai, à l'aide d'un filet à petites mailles constitué d'un matériau doux inerte (4.4). Écarter tout poisson tombé ou maltraité d'une autre façon pendant le transfert. Pour un essai donné, tous les poissons doivent être introduits en l'espace de 30 min.

Régler le dispositif de renouvellement de la solution (4.3) à un débit d'au moins 25 litres par jour, soit en continu, soit par additions à de courts intervalles. Le taux de renouvellement peut être réduit jusqu'à 12 litres par jour, à condition que la concentration en oxygène dissous de la solution à la sortie reste supérieure à 60 % de la valeur de saturation dans l'air.

Il convient que la solution d'essai utilisée pour le renouvellement soit portée et maintenue à une température proche de 23 °C avant d'être introduite dans les récipients d'essais.

Noter le nombre de poissons morts dans chaque récipient au moins chaque jour durant la période de l'essai. Retirer chaque poisson mort des récipients aussitôt que possible. Des observations peuvent être faites plus fréquemment, par exemple pour pouvoir calculer, pour chaque concentration, les périodes moyennes de survie.

Noter tout comportement anormal des poissons.

Lorsque cela est possible, les concentrations de la substance à expérimenter dans les solutions mères et dans les solutions à la sortie des récipients d'essais doivent être mesurées au moins au début et à la fin de l'essai.

Mesurer la concentration en oxygène dissous, le pH et la température de la solution à la sortie de chaque récipient au moins une fois par jour et au début et à la fin de l'essai.

Une proposition de formulaire d'enregistrement des données est présentée dans l'annexe B.

7 Expression des résultats

7.1 Validité

Les résultats sont considérés comme valables si les conditions suivantes sont respectées:

a) la concentration en oxygène dissous dans les solutions d'essai au cours de l'essai est au moins égale à 60 % de la valeur de saturation dans l'air;

b) les concentrations des substances à expérimenter ne sont pas connues (ou suspectées) comme ayant décru significativement pendant l'essai (mais voir l'article 2);

c) la mortalité du témoin n'excède pas 10 % ou un par récipient;

d) la proportion de poissons témoins montrant un comportement anormal n'excède pas 10 % ou un par récipient;

e) la CL50 - 24 h du produit chimique de référence [par exemple le dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$)] pour la population mère se situe à un niveau acceptable par rapport aux résultats obtenus précédemment dans le même laboratoire.

7.2 Estimation de la CL50

Si une simple estimation graphique est considérée comme suffisante, celle-ci peut être obtenue en portant la mortalité (en pourcentage de poissons pour essai dans chaque récipient d'essais) en fonction de la concentration de la substance à expérimenter. En utilisant des axes arithmétiques, on obtient une relation sigmoïde à partir de laquelle la CL50 peut être déduite par interpolation de la concentration causant 50 % de mortalité (voir figure 1).

Il est plus approprié de porter les données sur un papier graphique possédant des échelles logarithmique et de probabilité. Les données portées de cette manière fournissent une relation linéaire à partir de laquelle la CL50 peut être déduite par interpolation (voir figure 2).

Si une estimation de la pente, des limites de confiance à 95 % et de la CL50 sont nécessaires (il est recommandé que ces statistiques soient fréquemment évaluées, lors du report des résultats), les données peuvent être analysées graphiquement (voir [2] dans l'annexe C).

Si l'on dispose de systèmes de calcul, l'analyse probit peut être appliquée (voir [1] dans l'annexe C).

Si les résultats sont disponibles en nombre insuffisant pour estimer la CL50 à 24 h, à 48 h, à 72 h et à 96 h, noter la concentration minimale à laquelle se produit 100 % de mortalité et la concentration maximale causant 0 % de mortalité à 24 h, à 48 h, à 72 h et à 96 h. Ces concentrations indiquent les limites dans lesquelles se trouve la CL50.

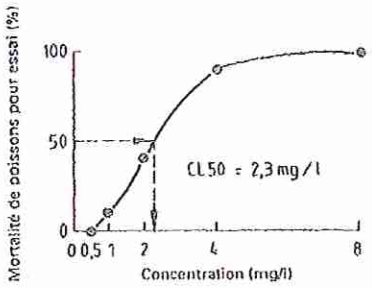


Figure 1 - Interpolation graphique de la CL50 (axes arithmétiques)

Annexe 2

Extraits de la norme ISO 20665 (6 points) –
Determination of chronic toxicity *Ceriodaphnia dubia*

1 Scope
This international standard specifies a method for the determination of the chronic toxicity to **Ceriodaphnia dubia** (Cladocera, Crustacea) based on reproduction inhibition after (7±1d)

The method is applicable to:

a) chemical substances which are solubleor which can be amintened as stables suspensions or dispersions under the conditions of the test.;
b) Industrial or sewage effluents, if appropriate after decantation, filtration or centrifugation;
c) Fresh waters;
d) Aquaeous extracts.

The International Standard is not applicable to the testing of aquatic samples from the estarine or marine environment.

.....

4 Principle
Ceriodaphnia dubia less than 24h old at the beginning of the test are exposed individually to a range of concentrations of the sample under test for a period of (7±1)d .The test typically ands after 7 day when 60% of the control organisms have produced their third brood. The mortality of the adultes females and teheir reproduction are monitored throughout the exposure time. All the other relevant biological parameters can also etudited.
The data obtained allow, using a suitable model, the calculation of the concentration which gives rise to x% reproduction inhibition, EC_x, e.g. EC_{10}, EC_{20} or EC_{50}

5 Test environment
Carry out the test in a temperature-controlled room or chamber at (25 ± 2) °C in the test cotainers. Ensure that, whitin one test, the température does not vary by more than 2 °C.

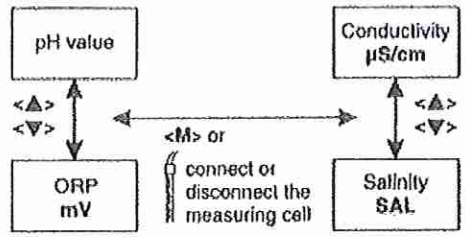
Adjust the day/night test cycle to 16 h of daylight and 8 h of darkness. In the test containers, a range of lighting intensity at the air interface of 100 lx to 600 lx is recommanded. Do not shake or aerate the test containers.

Maintain the atmosphere free from toxic dusts or vapours. The use of control solutions is a double check that the test being performed in an atmosphere free from toxic duts and vapours

Annexe 3

Mode d'emploi d'un appareil

Measuring



Automatic drift control AutoRead:

<AR> — Switch on the drift control.

<RUN/ ENTER> — The *AR* display indicator flashes. Wait until the measured value is stable and *AR* stops flashing.

You can cancel AutoRead at any time using <RUN/ENTER>.

Calibrating pH

AutoCal TEC Technical Buffer Solutions: pH 2.00 / 4.01 / 7.00 / 10.01

AutoCal DIN Standard buffer solutions acc. to DIN 19266: pH 1.679 / 4.006 / 6.865 / 9.180

Example *AutoCal TEC*:

<CAL>, until — Immerse the pH electrode in the first buffer solution.

<RUN/ ENTER> — AutoRead measurement. When the measured value is stable, *CI2* appears.

For single-point calibration, cancel with <M>.

For two-point calibration, continue as follows:

Immerse the pH electrode in the second buffer solution.

<RUN/ ENTER> — AutoRead measurement.

When the measured value is stable, the slope appears.

<RUN/ ENTER> — Display of the asymmetry. Return to the measuring mode using <M>.

Determining the cell constant

Calibration in 0,01 mol/l KCl control standard solution.

Select the conductivity measuring mode, then:

Press <CAL> until *CELL* appears.

<RUN/ ENTER> — Immerse the conductivity measuring cell in the control standard solution.

<RUN/ ENTER> — AutoRead measurement

As soon as a stable value is recognized, the current cell constant appears. The instrument automatically stores the cell constant.

Return to the measuring mode using <M>.

Storing

Storing the displayed measured value manually:

<STO> — *No.*: Number of the next free storage location.

<RUN/ ENTER> — *Ident.* ID number of the data record.

Using <▲> <▼>, change the ID number.

Finish storing with <RUN/ ENTER>

Automatic storing function AutoStore:

<RUN/ ENTER> + <STO> — Using <▲> <▼>, change the storing interval. (*OFF* = Storing function switched off).

<RUN/ ENTER> — Number of the storing locations that are still free.

<RUN/ ENTER> — *Ident.* ID number of the data record.

Using <▲> <▼>,change the ID number.

Start AutoStore using <RUN/ENTER>.

Data record: Storage location number, date/time, measured values, temperature, temperature measuring procedure, ID number.

ba52345e01